

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

E.A.P. DE OBSTETRICIA

**Efecto del ibuprofeno y celecoxib sobre la fertilidad de
ratas hembras**

TESIS

para optar el grado de Licenciada en Obstetricia

AUTORES:

Leidy Stefanie Bacalla Gabriel

Milagros Lucila Osorio Tarrillo

Asesor:

Daisy Yesenia Flores Cortez

Lima-Perú

2011

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado en primer lugar a Dios por guiar nuestros pasos y ayudarnos a superar los obstáculos, a nuestros padres por su amor, sacrificio, apoyo incondicional y porque nos alentaron constantemente, a nuestra asesora Dr. Daisy Flores por su constancia y tiempo dedicado en toda la realización del trabajo. Y finalmente a nosotras porque el sacrificio y esfuerzo se ve ahora reflejado en esta tesis.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Mag. Eduardo Villalobos de la Sección de Farmacología de UNMSM, Lic. Luis Mauricio del HNAL, Srta. Diana Tello del Instituto de Patología de la UNMSM, Sr. Madrid de la sección de Farmacología de la UNMSM y al Sr. Rosauro de la sección de Histología de UNMSM porque sin su ayuda no habría sido posible la realización del presente trabajo.

Agradecemos a nuestro jurado de tesis: Dr. Manuel Palomino Yamamoto, Dr. Humberto Gonzales garay y Mag. Zaida Zagaceta Guevara por su tiempo dedicado y valorables sugerencias.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	7
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	10
III.	RESULTADOS	14
IV.	DISCUSIÓN	19
V.	CONCLUSIONES	23
VI.	RECOMENDACIONES	24
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
VIII.	ANEXOS	29

R

Objetivo: Determinar si el Ibuprofeno y Celecoxib disminuyen la fertilidad de ratas hembras. **Diseño:** Estudio experimental. **Lugar:** Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Material biológico:** Ratas Sprague-Dawley adultos de 3 – 4 meses de edad, con peso 150 ± 20 g. no preñadas. . **Métodos:** Se realizó el seguimiento del ciclo estral del total de ratas, y se distribuyó aleatoriamente, en 3 grupos: Grupo Control (n=7): Suero fisiológico 0.1ml/100g; Grupo Ibuprofeno (n=7): Ibuprofeno 120 mg/kg/12h; Grupo Celecoxib (n=8): Celecoxib 20 mg/kg/12h. El tratamiento fue iniciado en diestro y se reunieron con los machos en estro del mismo ciclo, solo hasta cumplir 10 días. Luego se mantuvieron 10 días sin tratamiento y solas, al concluir 20 días fueron eutinizadas y expuestos los úteros. **Principales Medidas de Resultados:** se usó el porcentaje gestación y se evaluó el número de fetos a través de la media y el porcentaje de reducción. **Resultados:** En la evaluación de % de gestación, el ibuprofeno tuvo 28.6% y celecoxib 62.5% que fueron menores en comparación con el control 85.7%; en la evaluación del numero de fetos, el % de reducción fue en el ibuprofeno 76.2%, y en el celecoxib 59.9%, en relación al grupo control. Sin diferencia significativa entre los grupos ibuprofeno y celecoxib, tanto en el porcentaje de gestación como en el número de fetos. **Conclusión:** La administración por vía intragástrica de Ibuprofeno 120 mg/kg/12h y celecoxib 20 mg/kg/12h modifica negativamente la fertilidad en ratas hembras normales. No se encontró diferencia significativa entre Ibuprofeno 120 mg/kg/12h y celecoxib 20 mg/kg/12h sobre la fertilidad en ratas hembras normales.

Palabras clave: rata, celecoxib, ibuprofeno, fertilidad.

SUMMARY

Objective: Determine if ibuprofen and celecoxib reduced the fertility of female rats. **Design:** Experimental. **Location:** animal house, Faculty of Medicine of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Biological material:** Rats, Sprague-Dawley adult 3 to 4 months old, weighing 150 ± 20 g. not pregnant. **Methods:** monitoring the total estrous cycle of rats, and were randomized in 3 groups: control group (n = 7) 0.1ml/100g saline, ibuprofen group (n = 7): Ibuprofen 120 mg / kg/12h; Celecoxib group (n = 8): Celecoxib 20 mg/kg/12h. The treatment started in diestrus and came together with males in estrus the same cycle, only ten days. After 10 days remained untreated and alone, at the conclusion of 20 days were euthanized and the uterus exposed. **Main Outcome Measures:** We used the pregnancy rate and number of fetuses evaluated through the average and the percentage reduction. **Results:** The evaluation of % of gestation, ibuprofen was 28.6% and celecoxib was 62.5%, who were under the control compared with 85.7% in the assessment of the number of fetuses, the % reduction was 76.2% for ibuprofen, and 59.9% for celecoxib compared to the control group. No significant difference between ibuprofen and celecoxib groups, both in the pregnancy rate and the number of fetuses. **Conclusion:** The intragastric administration of ibuprofen 120 mg/kg/12h and celecoxib 20 mg/kg/12h adjust negatively normal fertility in female rats. No significant difference was found between ibuprofen 120 mg/kg/12h and celecoxib 20 mg/kg/12h on fertility in normal female rats.

Key words: rat, celecoxib, ibuprofen, fertility.

I. INTRODUCCIÓN

La fertilidad es un aspecto que tiene gran importancia en la realización de una pareja, siendo así debemos considerar que la probabilidad máxima de embarazo en seres humanos en periodo fértil es de tan solo 30 a 35%, una tasa baja, además debemos considerar que en el mundo la tasa de infertilidad va en aumento de 10 a 20%, y del total de casos de infertilidad 30% son de causa femenina y 10% de causa desconocida¹. Entonces el tener un embarazo no es siempre tan fácil, y en muchos casos no se consigue sin la intervención de técnicas complejas y muy costosas^{2,3}. Siendo tan importante y difícil la reproducción, como personal obstetra debemos velar porque la pareja goce plenamente de su salud sexual y reproductiva y haga uso de su derecho de concebir, dependiendo a cada caso. Respecto a esto es importante evitar los factores que puedan influenciar negativamente en la fertilidad, como es el uso de determinado medicamento.

La vía ciclooxygenasa (COX) representa una de las principales rutas para el metabolismo oxidativo del ácido araquidónico a prostaglandinas. La COX consta de dos enzimas: la COX1 y COX2⁴, las dos enzimas COX son muy similares en estructura, pero tienen una diferencia crucial en la secuencia de aminoácidos en su sitio activo^{5,6}. La COX1 o constitutiva, se expresa habitualmente en la mayoría de los tejidos y tiene funciones fisiológicas, como prevención de erosiones gástricas y úlceras en el tracto gastrointestinal, y en el mantenimiento de la función renal normal; mientras que la COX2 o inducible, se expresa en los focos inflamatorios, neoplasias y bajo determinadas circunstancias fisiológicas, COX2 también existe en forma constitutiva en ciertos tejidos (cerebro, la médula espinal y el sistema reproductor femenino), su expresión es inducida por una variedad de estímulos, incluyendo la inflamación y la inducción de las contracciones durante el parto.

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) no selectivos, inhiben las enzimas COX1 y COX2. Los AINEs tienen propiedades antiinflamatorias,

antipiréticas y analgésicas por ello se utilizan ampliamente en las enfermedades crónicas dolorosas. Sin embargo, también tienen efectos adversos, los más comunes están relacionados con los riñones y el tracto gastrointestinal por la inhibición de COX1, con el fin de evitar estos efectos adversos, se creó los AINEs selectivos de la isoforma COX2 ⁷.

Recientes estudios demuestran que la síntesis de prostaglandinas se relacionaría estrechamente con la reproducción. En endometrio bovino, durante el ciclo menstrual, se encontró la más alta expresión de COX1 en el endometrio de la fase lútea, en la superficie y en el epitelio glandular, pero no se halló en las células del estroma. La expresión COX2 fue evidente en todas las fases del ciclo menstrual, y se localizó específicamente en las células epiteliales ^{8,9,10,11}. En otro estudio se realizó un examen de inmunofluorescencia microscópica de un ovario humano en etapa postovulatoria, donde se reveló la distribución de la COX2 en intersticio, pero no en células de la granulosa de un folículo roto, lo que sugiere que la COX2 se produce principalmente en los folículos antes de la ovulación, y en las células intersticiales después de la ovulación ¹². También se determinó que COX1 se expresa en las células epiteliales del útero en la mañana del día 4 antes de la implantación, mientras que la COX2 se expresa en el epitelio luminal y subyacente en el estroma circundante del blastocisto en la medianoche del día 4 ^{13,14}. En el inicio del embarazo se ha visto que COX1 disminuyó en las células epiteliales, mientras que COX2 fue detectado en la superficie del epitelio, en las células del estroma y en el sitio de implantación, implicándose las vía cicloxigenasa en todo el ciclo reproductivo.

La ovulación es un proceso que depende de los efectos coordinados de las gonadotropinas que median el desarrollo folicular, la maduración del oocito y la ruptura folicular en los ovarios, algunos estudios mencionan que la inhibición de la enzima COX genera el síndrome de la no ruptura del folículo, una condición anovulatoria caracterizada por signos clínicos de ovulación pero en la ausencia de la ruptura folicular y liberación del óvulo ^{10,11,13}. Así también se resalta su acción en la implantación, siendo posiblemente importantes mediadores de la comunicación de embriones del útero en el inicio de la implantación ^{11,15}.

Por otro lado conocemos que los AINEs tienen una amplia gama de indicaciones, por lo que son uno de los grupos de medicamentos más prescritos en la atención médica. Uno de los AINEs de mayor consumo es el Ibuprofeno, el cual es usado de muchas veces de modo indiscriminado por la población debido a su frecuente prescripción médica y a que son adquiridos de forma libre en las farmacias¹⁶. Otro AINE usado frecuentemente es el celecoxib, el cual se indica en el tratamiento de primera línea en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas como artritis y otros desordenes reumatológicos. Así también se indican en casos de endometriosis, dismenorrea y menorragia ¹⁷; de este modo no es infrecuente su uso en mujeres en edad reproductiva donde posiblemente estos fármacos han podido causar disminución de la fertilidad, lo cual ha podido subestimarse.

Aunque hay estudios previos sobre la relación de AINES y fertilidad, no hay un consenso de sus efectos en la fertilidad femenina. Es por ello que en ausencia de información definitiva, decidimos realizar el presente trabajo experimental el cual tiene como objetivos: (1) Evaluar el efecto de Ibuprofeno sobre la fertilidad en ratas hembras, (2) Evaluar el efecto de Celecoxib sobre la fertilidad en ratas hembras, (3) Comparar el efecto de Ibuprofeno y celecoxib sobre la fertilidad en ratas hembras.

II. MATERIAL Y METODOS:

TIPO DE ESTUDIO:

Experimental puro

MUESTRA

Ratas cepa Sprague-Dawley adultas de 3 – 4 meses de edad, con peso 150 \pm 20 g. no preñadas.

Criterios de inclusión:

Ratas hembras cepa Sprague-Dawley
Ratas adultas de 3 – 4 meses de edad
Ratas con peso corporal 150 \pm 20 g
Ratas en buen estado general
Ratas con ciclo estral regular

Criterios de Exclusión:

Ratas enfermas
Ratas menores de 3 meses o mayores de 4 meses

MATERIALES

Material biológico:

- Ratas cepa Sprague-Dawley hembras de 3 – 4 meses de edad, con peso 150 \pm 20g.
- Ratas cepa Sprague-Dawley machos de 3 – 4 meses de edad.

Material de laboratorio:

- Jeringas tuberculina
- Guantes
- Sondas metálicas orofaríngeas
- Láminas portaobjetos y cubreobjetos

- Hisopos

Equipos:

- Microscopio óptico
- Estufa de aire circulante (Memmert PO VL 40-220°C)
- Equipo de disección
- Balanza analítica (Mettler)

Material farmacológico y Reactivos:

- Pentobarbital 100mg/kg
- Ibuprofeno 400mg tableta (marca patente). 120mg/kg/12h.
- Celecoxib 200mg capsula (marca patente). 20 mg/kg/ 12h.
- Alcohol 90%
 - solución salina (0.1ml/kg)
 - Agua destilada
 - Reactivos diversos para tinción de Papanicolaou

MÉTODOS

Preparación de los animales

Los animales fueron obtenidos del Instituto nacional de Salud (INS). Posteriormente fueron alojados en jaulas metálicas de crianza individuales con libre acceso a alimento balanceado y agua ad libitum, en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) para su aclimatación durante 1 semana previa al experimento, a una temperatura ambiental que oscilaba entre 20-22 °C y 50-60% de humedad con 12 horas luz/oscuridad.

Seguimiento de ciclo estral de las ratas

Concluido el periodo de adaptación, se realizó el seguimiento del ciclo estral del total de ratas, para lo cual se extrajo muestras diarias de frotís vaginal durante 10 días con la técnica de hisopado. Posteriormente estas muestras fueron llevadas a tinción de Papanicolaou para luego ser observadas al

microscopio y determinar la etapa del ciclo estral respectivo (diestro, proestro, estro y metaestro)¹⁸. La identificación de la etapa estral fue realizada mediante la evaluación de las características citológicas por la técnica de Allen & Doisy¹⁹

Asignación de grupos

Una vez culminado el seguimiento del ciclo estral, se seleccionaron solo a las ratas hembras con ciclos regulares, que fueron 22, y se distribuyó aleatoriamente, en 3 grupos, los cuales asignadas al siguiente tratamiento:

Grupo Control (n=7): Suero fisiológico 1ml/kg/12h.

Grupo Ibuprofeno (n=7): Ibuprofeno 120 mg/kg/12h.

Grupo Celecoxib (n=8): Celecoxib 20 mg/kg/12h.

Preparación de tratamiento

Se preparó dos veces al día cada dilución, las tabletas se diluyeron en agua destilada hasta obtener la concentración previamente establecida, el grupo control recibió solo suero fisiológico. El tratamiento se administro vía intragástrica, usando una sonda metálica según dosis de tratamiento, mencionado líneas arriba.

Apareamiento y tratamiento

Escogidas las ratas, siendo el tercer ciclo estral de cada rata, se inició el tratamiento y apareamiento. El tratamiento inició en diestro (1er día del ciclo) y el apareamiento en estro (3er día del ciclo), uniéndose 2 hembras por un macho y se mantuvieron diez días, a partir del primer día de tratamiento. De este modo se aseguro que las ratas hembras estuvieran con machos dos estros (etapa fértil).

Concluidos los diez días, las ratas hembras fueron separadas de los machos y se mantuvieron cada rata en una jaula, solas y sin tratamiento por otros diez días.

Valoración de resultados

Concluidos los 20 días, todas las ratas hembras fueron eutanizadas con pentobarbital 100mg/kg. Se realizó una laparotomía abdominal y se expuso el útero de las ratas. Finalmente se determinó la presencia o no de gestación y el número de fetos en cada rata.

Análisis estadístico de los resultados

Evaluación de la fertilidad se evaluó a través de:

Porcentaje de gestación analizado por la prueba de Chi-cuadrado, con un nivel de confianza en menos del 95% ($p < 0,05$).

El número de fetos se expresó como la media \pm la desviación estándar, se realizó análisis de varianza (ANOVA), seguida del test Tukey para comparaciones múltiples entre las medias, y el nivel de confianza en menos del 95% ($p < 0,05$).

III. RESULTADOS

3.1 Porcentaje de gestaciones en las ratas hembras tratadas con AINES

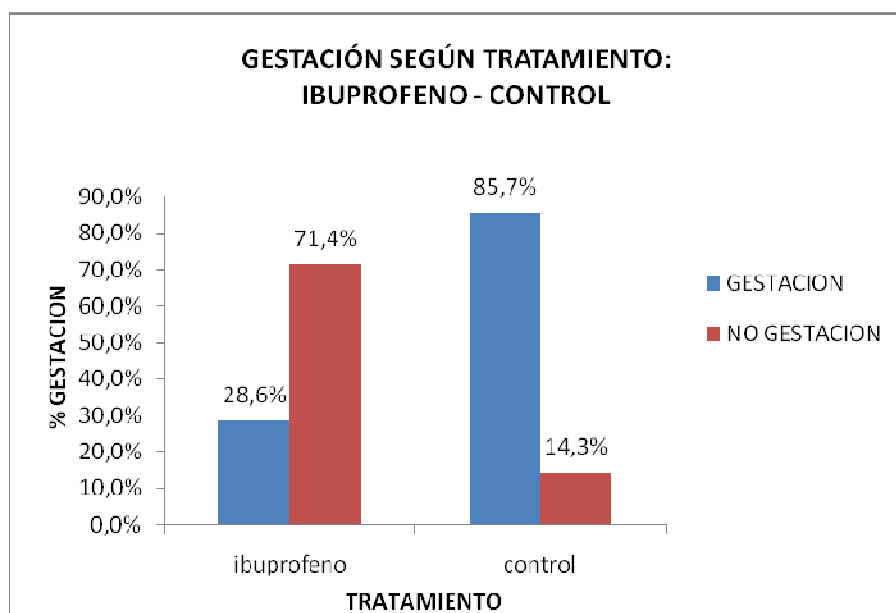
Se obtuvo el porcentaje de gestación de acuerdo al tratamiento recibido, hallándose 28,6% en el grupo que recibió ibuprofeno y 85,7% en el grupo control, un cambio significativo ($p < 0,05$), como se observa en la tabla 1 y gráfico 1.

TABLA 1: GESTACIÓN SEGÚN TRATAMIENTO

		Gestación				Total	
		si		No			
		n	%		%	n	%
tratamiento	ibuprofeno	2	28,6%	5	71,4%	7	100,0%
	control	6	85,7%	1	14,3%	7	100,0%
Total		8	57,1%	6	42,9%	14	100,0%

$p < 0,01499831$

GRÁFICO 1



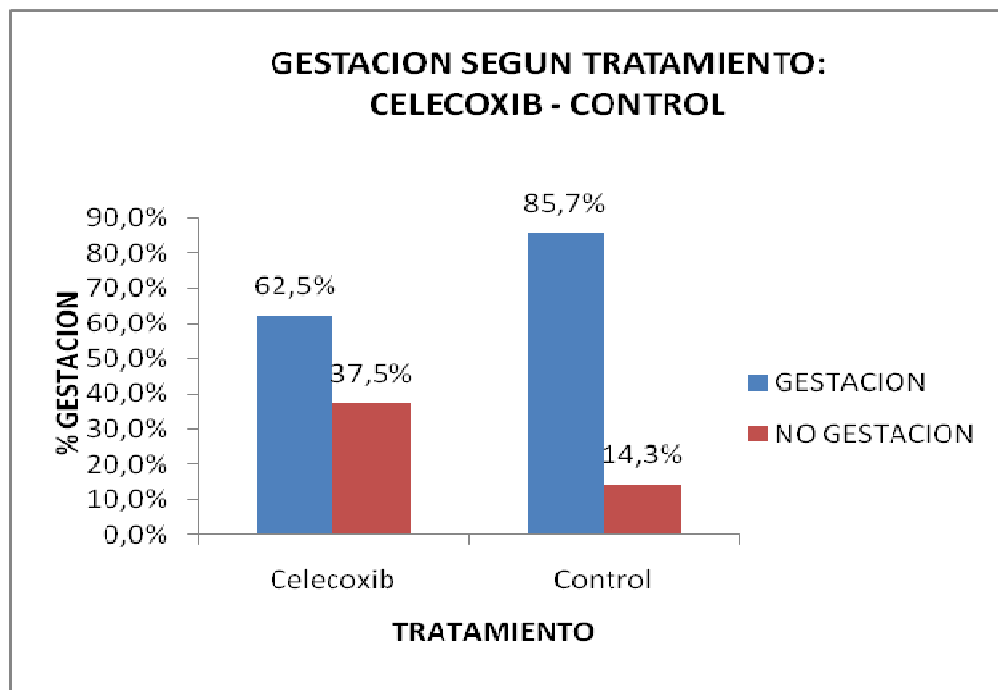
El porcentaje de gestación fue de 62,5% en el grupo que recibió celecoxib mientras 85,7% en el grupo control, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) como se observa en la tabla 2 y gráfico 2.

TABLA 2: GESTACIÓN SEGÚN TRATAMIENTO

		Gestación				Total	
		si		no			
		n	%	n	%	n	%
Tratamiento	Celecoxib	5	62,5%	3	37,5%	8	100,0%
	Control	6	85,7%	1	14,3%	7	100,0%
Total		11	73,3%	4	26,7%	15	100,0%

$P < 0,04017134$

GRÁFICO 2



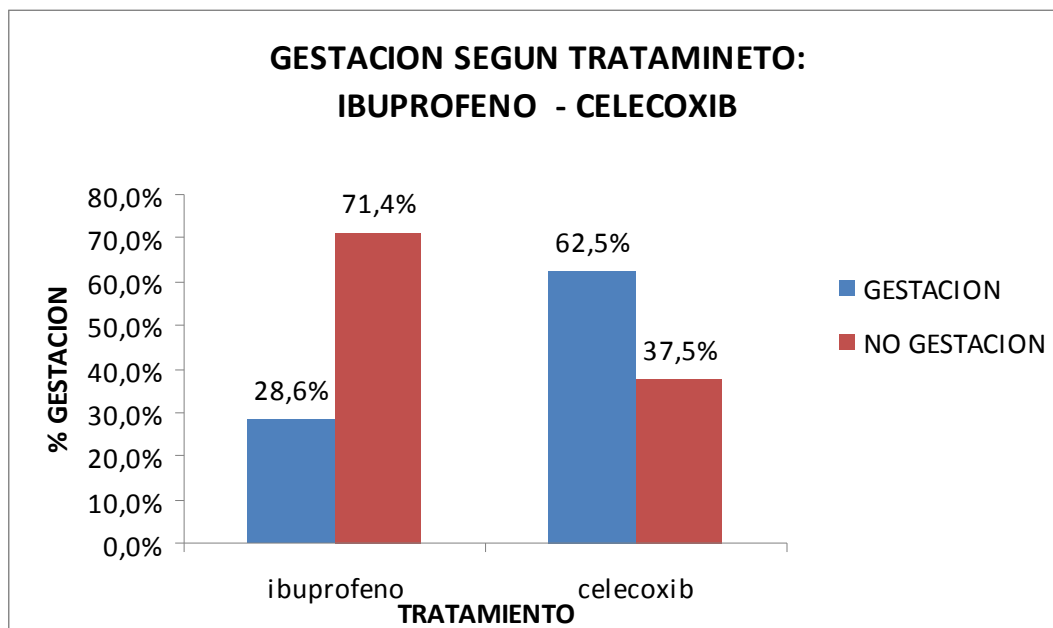
El porcentaje de gestación fue de 62,5% en el grupo que recibió celecoxib, mientras 28,6% en el grupo que recibió ibuprofeno, sin observarse un cambio significativo ($p < 0,05$) como se observa en la tabla 3 y gráfico 3.

TABLA 3: GESTACIÓN SEGÚN TRATAMIENTO

		Gestación				Total	
		si		no			
		n	%		%	n	%
Tratamientos	Ibuprofeno	2	28,6%	5	71,4%	7	100,0%
	Celecoxib	5	62,5%	3	37,5%	8	100,0%
Total		7	46,7%	8	53,3%	15	100,0%

$p < 0,22997648$

GRAFICA 3



3.2 Número promedio de fetos observados en las ratas hembras tratadas con AINES

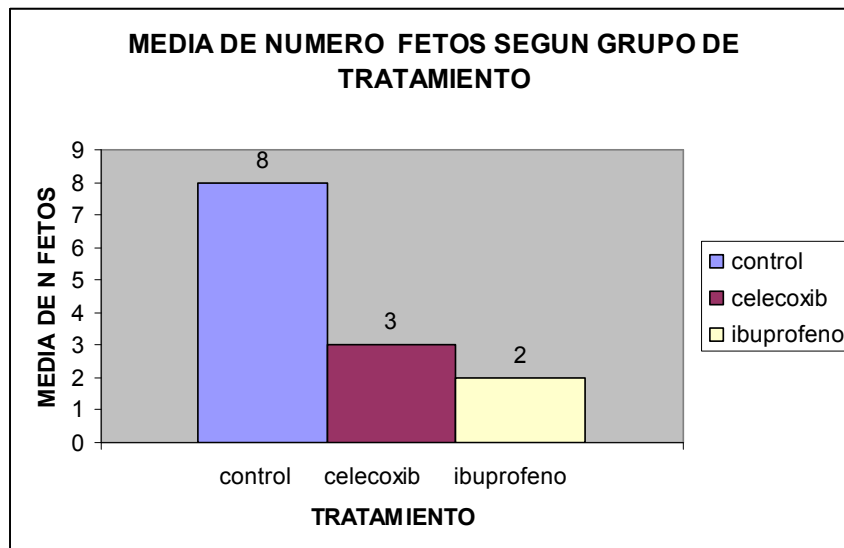
La tabla 4 y gráfica 4 evidencia el promedio en el número de fetos de acuerdo a grupos de tratamiento encontrando 8,4 en el grupo control que recibió suero fisiológico; 3,3 en el grupo que recibió celecoxib y 2 en el grupo que recibió ibuprofeno

TABLA 4: MEDIA DE NÚMERO DE FETOS SEGÚN TRATAMIENTO

Tratamiento	N según grupo de tratamiento.	Media según grupo de tratamiento.	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	7	8.43	3.95	1.49	4.77	12.08	.00	11.00
Ibuprofeno	7	2.00	3.46	1.31	-1.20	5.20	.00	8.00
Celecoxib	8	3.38	3.74	1.32	.249	6.50	.00	9.00
Total	22	4.55	4.50	.96	2.55	6.54	.00	11.00

P < 0,05

GRÁFICA 4



Al evaluar la diferencia medias del número de fetos se encontró que fue significativo entre los grupos que recibieron celecoxib o ibuprofeno en referencia al grupo control, y sin cambio significativo cuando se comparó el grupo que recibió celecoxib frente al grupo que recibió ibuprofeno. (Tabla 5)

**TABLA 5: MEDIA DE NÚMERO DE FETOS SEGÚN TRATAMIENTO
(COMPARACIONES MULTIPLES)**

	(I) VAR00001	(J) VAR00001	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD de Tukey	Control	Ibuprofeno	6.43(*)	1.99	.012	1.37	11.49
		Celecoxib	5.05(*)	1.93	.042	.16	9.95
	Ibuprofeno	Control	-6.43(*)	1.99	.012	-11.49	-1.37
		Celecoxib	-1.38	1.93	.759	-6.27	3.52
	Celecoxib	Control	-5.05(*)	1.93	.042	-9.95	-.157
		Ibuprofeno	1.38	1.93	.759	-3.52	6.27

*La diferencia entre las medias es significativa al nivel .05.

* Tukey's HSD (Honestly Significant Difference – diferencia honestamente significativa)

3.3. Porcentaje de reducción en el número de fetos de ratas tratadas con AINES

Se obtuvo el porcentaje de reducción en el grupo que recibió ibuprofeno (76,27 %) y en el grupo que recibió celecoxib (59,96%) siendo estas diferencias estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en referencia al grupo control, tal como se muestra en la tabla 6.

TABLA 6: PORCENTAJE DE REDUCCION DE NÚMERO DE FETOS

Tratamiento	Media de fetos	Efecto porcentual	Porcentaje reducción
Control	8,4286	100	0
Ibuprofeno	2,0000(*)	23,7287	76,2713
Celecoxib	3,3750(*)	40,0422	59,9578

* $p < 0,05$ en relación al grupo control

IV. DISCUSIÓN

El ibuprofeno y el celecoxib, tienen gran importancia en las mujeres en edad fértil ya que son los AINEs más prescritos en dolor de endometriosis, dismenorrea o menorragia²⁰ y también constituyen el tratamiento de primera línea en artritis inflamatoria y otras enfermedades reumatológicas²¹

Se han realizado investigaciones que plantean la relación entre algunos antiinflamatorios no esteroideos y fertilidad como; “Tasa de ovulación y los niveles séricos de LH en ratas tratadas con indometacina o PGE2”, por Tsafriri A, Y Koch²², donde se observó una disminución de la hormona Luteinizante(LH) en ratas tratadas con Indometacina, así mismo en “ Los efectos anti-Implantación de la indometacina y celecoxib en ratas “ realizada por Sookvanichsilp y Pulbutr²³ se demostró una disminución de la fertilidad, mediante la inhibición de la implantación .

En “ Un nuevo caso de infertilidad inducida por AINE” de Calmels y Dubost²⁴ se halló que los óvulos extraídos para fertilización in vitro, en una paciente tratada con piroxicam, se encontraban inmaduros y fallaron en fertilizarse; sin embargo luego de la discontinuación de piroxicam 7 óvulos fueron fertilizados, permitiendo la implantación del embrión. De igual manera en; “Las drogas anti-inflamatorias no esteroideas como una posible causa para la infertilidad reversible” realizada por Mendonca²⁵, “infertilidad puede ser asociada con el consumo de AINE “ realizada por M Akil,²⁶ “ folículos luteinizado no roto en mujeres con artritis inflamatoria usuarias de medicamentos antiinflamatorios “ realizada por G Smith²⁷, se reportan casos de mujeres con artritis reumatoidea tratadas con diclofenaco, indometacina y naproxeno que presentan infertilidad inexplicable, después de la discontinuación de los antiinflamatorios no esteroideos pudieron concebir en el 70% de los casos .

Sookvanichsilp y Pulburt²³ emplearon la indometacina, inhibidor potente no selectivo de la COX (COX1/COX2), y sus resultados demostraron que en dosis de 5 mg / kg / día, la indometacina podría reducir significativamente la

proporción de ratas embarazadas. Esto concuerda con los resultados de nuestro estudio, donde las ratas que tratadas con ibuprofeno, que también es un inhibidor no selectivo de la COX, a dosis de 120 mg/kg/12h presentaron un porcentaje de gestación de 28,6% que fue menor en comparación con el grupo control (85.7%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa a un $p < 0.05$ (tabla 1, gráfico1). La disminución de la fertilidad también se pudo observar en el número de fetos lo cual se evaluó a través de la diferencia de medias y el porcentaje de reducción (76.2%) siendo estadísticamente significativo en comparación con el grupo control (tabla5, tabla6).

Otras investigaciones como las realizadas por Reese²⁸ nos demuestran que un inhibidor COX2 selectivo interfirió con la ovulación, la fertilización y la implantación en el ratón. Así también lo hace Sookvanichsilp y Pulburt²³ en un estudio de antiimplantación, donde demostraron que el celecoxib a dosis de 80 y 160 mg / kg / día podría reducir significativamente la proporción de ratas embarazadas. En nuestro estudio el grupo que recibió celecoxib a dosis de 20 mg/kg/12h tuvo un porcentaje de gestación de 62,5% que fue menor en comparación con el grupo control de 85,7% siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (tabla 2, gráfico2). La disminución de la fertilidad también se pudo observar en el número de fetos la cual se evaluó a través de la diferencia de medias y el porcentaje de reducción (59,9%) siendo estadísticamente significativo en comparación con el grupo control (tabla5, tabla6).

Algunos estudios experimentales usaron inhibidores selectivos de la COX2 y no selectivos para compararlos y determinar si hay algún efecto mayor en uno de ellos. Así, Reese²⁸ encuentra que inhibidores no selectivos de la COX (ibuprofeno y naproxeno) tienen efectos inhibitorios más graves sobre la implantación en ratones que la inhibición selectiva de la COX2 (celecoxib) y M Gaytán²⁹ nos muestra que la indometacina, siendo un inhibidor de la COX no selectivo, causó inhibición de la ovulación (alrededor del 50% de disminución) significativamente mayor que las ratas tratadas con un inhibidor selectivo de la COX2 (alrededor del 25% de disminución). Sin embargo, según nuestros resultados no observamos diferencia significativa entre los grupos que

recibieron ibuprofeno 120 mg/kg/12h y el grupo que recibió celecoxib 20 mg/kg/12h, tanto en el porcentaje de gestación como en el número de fetos (tablas 3, gráfico3, tabla 5, tabla6).

Ante lo expuesto, los resultados sobre la disminución de la fertilidad asociada a los AINEs se podrían explicar por la inhibición de la enzima COX que lleva a la falta de síntesis de prostaglandinas. Tanto la enzima COX1 como la COX2 se expresan en el epitelio uterino, siendo importantes en la ovulación, la fertilización, la implantación, así como en la angiogénesis para el establecimiento de la placenta (decidualización) y en diferentes etapas del embarazo precoz.^{30,31,32} Lim H¹¹ refiere que los defectos sobre la fertilidad son el resultado directo de la deficiencia de COX2, y no de la deficiencia de gonadotropinas hipofisarias, hormonas esteroideas ováricas, o la capacidad de respuesta reducida de los órganos diana a las hormonas respectivas.

En los ovarios, la enzima COX se activa durante el desarrollo folicular, siendo las prostaglandinas las que probablemente participen en la liberación del folículo maduro^{10, 11}. Existen evidencias de que las prostaglandinas inducen la movilización de las células de la teca interna y la granulosa y también puede inducir la generación de enzimas proteolíticas requeridas para la ruptura folicular. Se ha evidenciado la presencia de COX2 en las células del cúmulo que rodean al óvulo¹³. De esta manera, la inhibición de la COX o las prostaglandinas genera el síndrome de la no ruptura del folículo, una condición anovulatoria caracterizada por signos clínicos de ovulación pero en la ausencia de la ruptura folicular y liberación del óvulo. Esto es apoyado por resultados que establecen que la deficiencia de COX2 es la causa principal de la ovulación y la fertilización defectuosa.¹¹

Las prostaglandinas también están implicadas como mediadores importantes de aumento de la permeabilidad vascular endometrial durante la decidualización e implantación. Reese²⁸ observó una inhibición completa de la implantación y al inducir decidualización experimental, los ratones mostraron ausencia completa de la respuesta decidual.

En conclusión podemos afirmar que bajo nuestras condiciones experimentales, tanto Ibuprofeno 120 mg/kg/12h como celecoxib 20 mg/kg/12h disminuyen la fertilidad en ratas, sin embargo no podemos precisar si el efecto se ha dado sobre la ovulación y/o la implantación.

V. CONCLUSIONES

- (1) El ibuprofeno a dosis de 120 mg/kg/12h disminuye la fertilidad en ratas hembras.
- (2) El celecoxib a dosis de 20 mg/kg/12h disminuye la fertilidad en ratas hembras.
- (3) No se encontró diferencia significativa entre ibuprofeno 120 mg/kg/12h y celecoxib 20 mg/kg/12h sobre la fertilidad en ratas hembras.

VI. RECOMENDACIONES

- Considerar un uso más cuidadoso de los AINEs debido a la controversia de los su posible efecto sobre la fertilidad, y considerar una mejor difusión a la población respecto a los efectos de estos fármacos.
- Realizar estudios donde se evalúe el peso y la talla de los fetos, para ver si hay algún efecto de los AINEs sobre estos parámetros.
- Realizar más estudios usando una mayor población y diferentes dosis de tratamiento.
- Determinar el efecto de los AINES en la implantación de los embriones en ratas
- Realizar dosajes plasmáticos de estrógenos y progestágenos en ratas tratadas con AINES.
- Utilizar otros AINEs y fármacos en general que tengan alguna controversia de su efecto sobre la fertilidad.
- Realizar estudios que valoren la posibilidad de crear nuevos anticonceptivos cuyo mecanismo de acción sea la inhibición de la ciclooxigenasa.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sociedad española de fertilidad. Infertilidad humana.2009./acceso enero 2011/ disponible en: <http://nuevo.sefertilidad.com/index.php>
2. Sociedad chilena de fertilidad. Infertilidad humana.2010./acceso enero 2011/ disponible en: <http://www.socmer.cl/>
3. Sociedad peruana de fertilidad. Infertilidad humana.2010./acceso enero 2011/ disponible en: <http://www.spfertilidad.com/>
4. O Banion MK, Sadowski HB, Winn V et al.A Serum –and glucocorticoid – regulated 4kilobase mRNA encodes a cyclooxygenase – related protein. J Biol Chem 1991;23261-23267.
5. Picot D,Loll PJ, Garavito RM. The X- ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase -1. Nature 1994; 367:243-249.
6. Kurumball RG,Stevens AM,Gierse JK et al.Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase -2 by anti-inflammatory agents. Nature 1996; 384:644-648.
7. Abramson Sb, Weissmann G. The Mechanisms Of Action Of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. Arthritis Rheum 1989; 32:1-9.
8. N. Markosyan And Dm Duffy Prostaglandin E2 Acts Via Multiple Receptors To Regulate Plasminogen-Dependent Proteolysis In The Primate Periovulatory Follicle Endocrinology, January 1, 2009; 150(1): 435 – 444
9. Reich R, Daphna-Iken D, Chun S, Et Al. Preovulatory Changes In Ovarian Expression Of Collagenases And Tissue Metalloproteinase Inhibitor Messenger Ribonucleic Acid: The Role Of Eicosanoids. Endocrinology 1991; 129 (4): 1869-1875
- 10.Norman R, Wu R. The Potential Danger Of Cox-2 Inhibitors. Fertility And Sterility. 2004;81(3):493-494.
- 11.Lim H, Paria Bc, Das Sk, Dinchuk Je, Langenbach R, Trzaskos Jm, Dey Sk. Multiple Female Reproductive Failures In Cyclooxygenase 2-Deficient Mice. Cell. 1997;91(2):197-208.

12. Tokuyama O, Nakamura Y, Muso A et al. Expression and distribution of cyclooxygenase -2 in human periovulatory ovary. *Int J Mol med* 2001;8:603 -606.
13. (13) Stone S, Khamashta M, Piercy, N. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs And Reversible Female Infertility. *Drug Safety* 2002; 25 (8): 545-555
14. Chakraborty I, Das SK, Wang J, Dey SK 1996 Developmental expresión of the cyclo-oxygenase-1 and Cyclo-oxygenase -2 genes in the peri-implantation Mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. *J Mol ENDOCRINOL* 16:107 -122.
15. Paria BC, Lim H, Das SK, Reese J, Dey SK 2000 Molecular signalling in uterine receptivity for implantation. *Cell and Developmental Biology* 11:1-8.
16. Mendoza Urrutia, Luis Antonio, Salvatierra Layten, Gustavo Y Frisancho Velarde, Oscar. Perfil Del Consumidor De Antiinflamatorios No Esteroides En Chiclayo Y Cajamarca, Perú. *Acta Méd. Peruana*. [Online]. Oct./Dic. 2008, Vol.25, No.4 [Citado 25 Febrero 2010], P.216-219. Disponible En La World Wide Web: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172008010000006&lng=es&nrm=iso>. Issn 1728-5917.
17. Allen C, Hopewell S, Prentice A. Fármacos Antiinflamatorios No Esteroides Para El Dolor En Mujeres Con Endometriosis. *Biblioteca Cochrane Plus*, 2008, Número
18. Hoar W, Hickman CP. Ovariectomy and the estrous cycle of the rat. In: W. Hoar & C. P. Hickman (eds.), *General and comparative physiology*. 2. ed. New Jersey: Prentice-Hall; 1975:260-5. la citología del exudado vaginal es usada para la determinación de las fases del ciclo estral
19. Allen E, Doisy Ea Landmark Article Sept 8, 1923. An Ovarian Hormone. Preliminary Report On Its Localization, Extraction And Partial Purification, And Action In Test Animals. By Edgar Allen And Edward A. Doisy. *Jama*. 1983;250(19):2681-2683
20. Carson DD, Bagchi I, Dey SK, Enders AC, Fazleabas AT, Lessey BA, Yoshinaga K. Embryo Implantation. *Dev Biol* 2000; 223:217–237

21. Psychoyos A. Endocrine control of egg implantation. In: Greep RO, Astwood EG, Geiger SR (eds) Handbook of Physiology. American Physiological Society, Washington, DC1973; Vol II, Part 2 pp 187-215
22. Tsafiriri A, Koch Y, Lindner Hr. Ovulation Rate And Serum Lh Levels In Rats Treated With Indomethacin Or Pge2. Prostaglandins 1973; 3 (4): 461-7
23. Sookvanichsilp N, Pulbutr P. Anti-Implantation Effects Of Indomethacin And Celecoxib In Rats. Contraception. 2002; 65(5): 373-8.
24. Calmels, C; Dubost, J J; Jasmin-Lebrun, C; Sauvezie, B. A New Case Of Nsaid-Induced Infertility. Revue Du Rhumatisme 1999; 66(3): 167-168.
25. Mendonça Lf, Khamashta Ma, Nelson-Piercy C. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs As A Possible Cause For Reversible Infertility. Rheumatology 2000; 39 (8): 880-2
26. Akil M, Amos Rs, Stewart P. Infertility May Sometimes Be Associated With Nsaid Consumption. Br J Rheumatol 1996; 35 (1): 76-8
27. Smith G, Roberts R, Hall C, Et Al. Reversible Ovulatory Failure Associated With The Development Of Luteinized Unruptured Follicles In Women With Inflammatory Arthritis Taking Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. Br J Rheumatol 1996; 35 (5): 458-462
28. Jeff Reese, Xuemei Zhao, Wen-Ge Ma, Naoko Brown, Timothy J. Maziasz and S. K. Dey. Comparative Analysis of Pharmacologic and/or Genetic Disruption of Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2 Function in Female Reproduction in Mice. Endocrinology 2001 142: 3198-3206, doi: 10.1210/en.142.7.3198
29. M Gaytan, C Bellido, C Morales, J E Sanchez-Criado, and F Gaytan Effects of selective inhibition of cyclooxygenase and lipooxygenase pathways in follicle rupture and ovulation in the rat. Reproduction, October 1, 2006; 132(4): 571 - 577.
30. Morrison Bw, Daniels Se, Kotey P Et Al. Rofecoxib, A Specific Cyclooxygenase-2 Inhibitor, In Primary Dysmenorrhea. Obst Gynecol 1999; 94. 504-508.
31. Mw Peters, Jr Pursley, And Gw Smith Inhibition Of Intrafollicular Pge2 Synthesis And Ovulation Following Ultrasound-Mediated Intrafollicular Injection Of The Selective

Cyclooxygenase-2 Inhibitor Ns-398 In Cattle J Anim Sci, June 1, 2004; 82(6): 1656 - 1662.

32.Dm Duffy Y RI Stouffer

The ovulatory gonadotrophin surge stimulates cyclooxygenase expression and prostaglandin production by the monkey follicle El Aumento De La Gonadotropina Ovulación Estimula La Expresión De La Ciclooxygenasa Y La Producción De Prostaglandinas Por El Folículo De Mono

Mol. Mol. Hum. Hum. Reprod., August 1, 2001; 7(8): 731 - 739. Reprod., 1 De Agosto De 2001; 7 (8): 731 - 739.

33.Animales de laboratorio - manual para técnicos. Organización panamericana de la salud.2000

34.Manual de practicas de fisiología animal. Universidad nacional autónoma de México. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia.1980

35.Fundamentos teóricos – prácticos de la citología exfoliativa en la medicina veterinaria. Hernández Pichardo, Fernández Reyes, Cortéz Suárez. CBS manual 5 .UAM, unidad de Xochimilco.

VIII. ANEXO I

CONCEPTOS BASICOS:

Los animales de experimentación que fueron usados en el estudio son Sprague-Dawley, que es la cepa de ratas albinas desarrollada por la Compañía Sprague-Dawley Animal, utilizadas ampliamente para fines experimentales, debido a que son tranquilas y fáciles de manipular.^{33,34}

Sobre las **características reproductivas** de las **hembras**: Poseen una vida media de 2 años. El aparato reproductor de las hembras tiene similitudes con el aparato reproductor del ratón. Su útero es bicornio con la peculiaridad que poseen 2 cuellos uterinos, uno para cada cuerno, comunicados entre si por una sola vagina. La membrana vaginal se abre a las 5 semanas de nacimiento, siendo sexualmente maduro entre 60–90 días de edad. El primer estro se da a los 72 días, la gestación de la hembra dura de 22 a 24 días con 8 a 12 nidadas por año, cada nidada posee de 8 a 12 individuos con una supervivencia de 12 a 20 individuos por hembra al año.^{33,34}

En el grupo de los **machos**: el descenso testicular se da de 15–50 días, la madurez sexual del macho ocurre a los 40–60 días con un peso fluctuante entre 100–140 gramos, es importante tener en cuenta que la madurez sexual del macho implica también una mejora en calidad y viabilidad de los espermatozoides.^{33,34}

El **ciclo reproductor** de las rata-ratón de laboratorio, *ciclo estral*, se estudia mediante un *frotis vaginal*, que se caracteriza por cantidades relativas y específicas de distintos tipos celulares del epitelio vaginal. El ciclo en estos roedores se repite cada 4 o 5 días y consisten en los siguientes estados: diestro, proestro, estro y metaestro.

- Diestro (57 h aprox.) En el campo microscópico aparecen abundantes leucocitos y muy escasas células epiteliales de la capa

basal. Esta fase corresponde a la fase inactiva, de ausencia de secreción de estrógenos.

- Proestro (12 h aprox.) Esta fase coincide con un gran aumento de tamaño del ovario debido a la presencia de numerosos folículos. Además en la vagina se produce un progresivo engrosamiento epitelial. En el frotis vaginal se observan escasos leucocitos (<10%), abundantes células epiteliales de núcleo redondo y voluminoso (células jóvenes) (>96%) y algunas, muy escasas células cornificadas (<30%) de los estratos superiores.
- Estro (15 h aprox.) Coincide esta fase con el máximo aumento de actividad estrogénica. Microscópicamente se observan escasos leucocitos (<10%), muy pocas células epiteliales (<25%) y un gran aumento de células cornificadas, con núcleo picnótico (estas células provienen de la degeneración de las epiteliales). En esta fase pueden observarse imágenes en forma de hoja de helecho, típicas de la cristalización del moco vaginal.

Aproximadamente a las 8 horas de iniciada esta fase se da la ovulación, etapa de celo.

- Metaestro I (15 h aprox.) II (6 h aprox.) En esta fase se inicia la regresión del epitelio vaginal, coincidiendo con la presencia de cuerpos lúteos en el ovario. Las células cornificadas empiezan a degenerar, comenzando esta degeneración por el núcleo que desaparece.³⁵